

# VU Research Portal

## Expression analysis of stress-induced apoptosis pathway regulating genes in B-cell lymphomas

van Galen, J.C.

2008

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

van Galen, J. C. (2008). *Expression analysis of stress-induced apoptosis pathway regulating genes in B-cell lymphomas*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Nederlandse samenvatting

Lymfomen zijn tumoren die ontstaan uit cellen van het immuunsysteem. Er wordt doorgaans een onderscheid gemaakt tussen Hodgkin lymfomen (HL) en de vaker voorkomende Non-Hodgkin lymfomen (NHL). Over het algemeen hebben de NHL een slechtere prognose dan de HL. De groep van NHL is echter zeer heterogeen, zowel wat betreft geno- en fenotypische kenmerken als prognose.

De prognose voor patiënten is afhankelijk van hoe tumorcellen reageren op de toegediende chemotherapeutica. Indien zelfs ook maar enkele tumorcellen in staat zijn om een behandeling met chemotherapeutica te overleven is dit zeer nadelig voor de patiënt. Tumorcellen kunnen diverse methodes aanwenden om chemotherapie te overleven. Sommige cellen hebben pompen in hun membraan die chemotherapeutica naar buiten kunnen pompen, hierdoor kan er geen schade aangericht worden in de cel. Indien de chemotherapeutica in de cel blijft en er wel schade aangericht wordt, treden er cellulaire mechanismen in werking waardoor de cel normaal gesproken zou moeten sterven, dit heet apoptose. Als een cel echter geen goed functionerende apoptose machinerie meer heeft zal de cel ook niet sterven als gevolg van de chemotherapeutica en zal de tumor voortwoekeren.

Apoptose kan op meerdere manieren geïnduceerd worden en leidt tot de opeenvolgende activatie van een aantal caspases die de uiteindelijke celdood uitvoeren. Er kunnen drie pathways onderscheiden worden in apoptose inductie: de intrinsieke, de extrinsieke en de endoplasmatisch reticulum (ER) route. Deze pathways worden op verschillende wijze geactiveerd maar leiden uiteindelijk tot het in werking zetten van celdood via dezelfde effector caspases.

De intrinsieke pathway wordt in gang gezet door intracellulaire veranderingen waardoor de membraan van het mitochondrium verstoord raakt en er factoren vrijkomen die samen het apoptosoom vormen. Dit apoptosoom bevat geactiveerd caspase 9 wat uiteindelijk caspase 3 activeert en daardoor celdood induceert. Bij de extrinsieke pathway wordt er een signaal van buitenaf via receptoren, die door de

membraan heen steken, naar binnen doorgegeven. Er wordt een complex van eiwitten gevormd rondom het intracellulaire gedeelte van de receptor waarbij geactiveerd caspase 8 op zijn beurt wederom caspase 3 aanzet tot het uitvoeren van executie. Ten slotte is er in de ER route sprake van defecte vorming van eiwitten waardoor allerlei processen in de cel verstoord zouden kunnen raken. Receptoren op het ER herkennen de verkeerd gevouwen eiwitten en via caspase 12 wordt ook in dit geval caspase 3 geactiveerd.

De regulatie van deze routes is zeer complex. In de eerste plaats is de activatie van de caspases een opeenvolging van meerdere stappen waarbij van de inactieve caspases stukjes worden afgeknipt waardoor een werkzame variant overblijft. Bovendien zijn er op vele niveaus van activatie factoren aanwezig die de celdood stimuleren danwel remmen. Indien er een defect is in een factor die de celdood moet bevorderen, of als er te veel is van een factor die de celdood kan remmen, kan er een probleem ontstaan zodra deze cellen schade oplopen waardoor ze eigenlijk in apoptose zouden moeten gaan. Indien deze schade ongeremde groei van de cel veroorzaakt heeft het lichaam een nog veel groter probleem, aangezien deze cel tot een tumor uit zou kunnen groeien.

In dit proefschrift zijn verschillende afwijkingen beschreven zoals die gevonden zijn in grootcellige B-cel lymfomen. We hebben geprobeerd om afwijkende expressiepatronen van apoptose regulerende eiwitten te correleren aan prognose van de patiënt. Verder proberen we aanbevelingen te doen over toekomstige behandelmethoden die de prognose zouden kunnen verbeteren.

In hoofdstuk 2 wordt beschreven wat de expressiepatronen zijn van zogenaamde Polycomb eiwitten in de normale B-cel ontwikkeling. Het is al langer bekend dat deze Polycomb eiwitten heel belangrijk zijn voor het ontstaan van B-cellen en voor controle van celdeling. In eerdere studies was aangetoond dat Polycomb eiwitten in 2 groepen uiteen vallen die ieder een complex kunnen vormen. Deze complexen zouden volgens deze eerdere studies niet samen tot expressie komen in gezonde B-cellen maar wel in B-cel lymfomen. In onze studie laten we zien dat de 2 complexen wel degelijk samen tot expressie komen in gezonde B-cellen, maar de samenstelling kan zodanig veranderen dat sommige onderdelen van de complexen normaal

gesproken maar in een zeer klein aantal cellen samen aangetoond kan worden. De co-expressie van verschillende onderdelen van de complexen in Hodgkin's lymfoom zoals beschreven in hoofdstuk 3 is dus niet geheel in strijd met de situatie zoals te zien in gezonde B-cellen. Het is echter wel ongebruikelijk dat zoveel cellen co-expressie vertonen, aangezien in gezonde B-cellen dit slechts in een fractie van de cellen gezien wordt. Het is dus waarschijnlijk zo dat de expressie van de complexen normaal gesproken strak gereguleerd wordt en dat deze regulatie in lymfomen is weggevallen waardoor beide complexen in hun geheel grotendeels samen tot expressie komen. Dit heeft dan waarschijnlijk weer tot gevolg dat regulatie van celdeling en apoptose in deze cellen verstoord is.

In hoofdstuk 4 laten we vervolgens zien dat verkeerde expressie van het Polycomb eiwit BMI1 ook daadwerkelijk leidt tot slechte prognose. In dit hoofdstuk proberen we een verklaring te vinden voor de slechte prognose aan de hand van een eerder gepubliceerd model waarin beschreven wordt dat p14ARF en p16INK4A expressie door BMI1 gereguleerd wordt. In onze groep lymfomen vinden we echter geen duidelijk verband tussen de expressie van BMI1 en die van p14ARF/p16INK4A. Waarschijnlijk zijn er dus ook andere factoren dan BMI1 betrokken bij de regulatie van p14ARF/p16INK4A, waardoor het effect van BMI1 gemaskeerd wordt.

Vervolgens wordt in hoofdstuk 5 de expressie van TRAF2 in lymfomen beschreven. TRAF2 is een interessant eiwit aangezien het een belangrijke schakel vormt in de doorgifte van signalen van buiten naar binnen in de cel. Al veel langer werd verondersteld dat verhoogde expressie van TRAF2 zou kunnen leiden tot extra hoge productie van anti-apoptotische factoren en daardoor slechte prognose. Inderdaad vinden wij in onze groep lymfomen een associatie tussen verhoogde TRAF2 niveaus en verslechterde respons op chemotherapie. De slechte prognose als gevolg van verhoogde TRAF2 niveaus is op 2 manieren te verklaren. In de eerste plaats komt TRAF2 alleen maar hoog tot expressie in tumoren die gekenmerkt worden door hoge expressie van anti-apoptotische factoren. Of dit veroorzaakt wordt door TRAF2 is echter niet duidelijk aangezien niet alle lymfomen uit deze groep hoge TRAF2 expressie kennen. Verder is het zo dat ook TRAF2 directe anti-apoptotische kenmerken heeft aangezien het de caspase 8 gemedieerde extrinsieke route kan remmen. Ook is TRAF2 betrokken bij de respons op intrinsieke celstress waarbij

eiwitten verkeerd gevouwen worden. Normaal gesproken zou een cel dan na caspase 12 activatie in apoptose gaan, TRAF2 kan echter ook dit proces remmen. Al met al zou TRAF2 op vele vlakken actief kunnen zijn in het veroorzaken van tumor-groei. Remming van TRAF2 zou mogelijk positieve gevolgen kunnen hebben op overleving van de patiënten.

In hoofdstuk 6 hebben we met behulp van een micro-array gekeken naar de hoogte van expressie van alle genen die betrokken zijn bij apoptose regulatie in 2 zeldzame groepen lymfomen. De PCLBCL, LT en PCFCL zijn beide grootcellige B-cel lymfomen maar komen in tegenstelling tot de meeste vormen van lymfomen niet in de lymfklier maar in de huid voor. Al eerder was een studie uitgevoerd waarbij op basis van expressie van apoptose regulerende genen 3 verschillende groepen konden worden onderscheiden in lymfomen uit de lymfklier. Met een zelfde techniek konden we ook PCLBCL, LT en PCFCL van elkaar onderscheiden. De waarde van deze bevinding ligt in het feit dat er op dit moment specifieke apoptose inducerende medicijnen worden ontwikkeld tegen de lymfklier lymfomen. Doordat we nu met behulp van de micro-array hebben aangetoond dat waarschijnlijk soortgelijke mechanismen verantwoordelijk zijn voor slechte prognose in deze huidlymfomen, kunnen de ontwikkelde medicijnen ook gebruikt worden voor de behandeling van deze zeldzame gevallen.

Concluderend: het is duidelijk dat er in de onderzochte groepen lymfomen afwijkingen zijn in de expressie van apoptose regulerende genen. Door het ontwikkelen van medicijnen die kunnen inwerken op de betrokken mechanismen zouden we in staat moeten kunnen zijn om zeer selectief apoptose programma's aan te zetten. In combinatie met de huidige chemotherapeutische protocollen zouden we dan in staat kunnen zijn om de prognose van de patiënten te verbeteren.